

C5720

Biochemie

4-Transportní bílkoviny

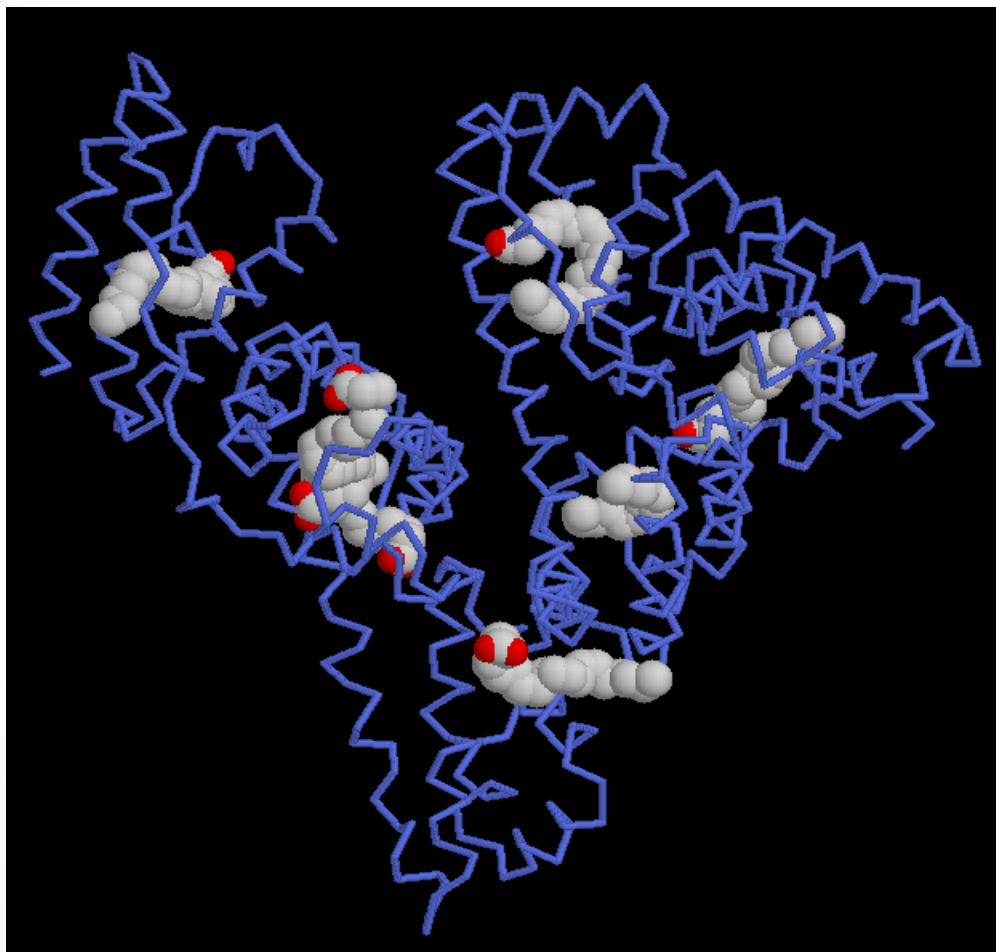
Transportní bílkoviny

- Různé typy bílkovin odlišné dle způsobu transportu
- Nepolární látky v polárním prostředí – krev apod.
 - Transport na větší vzdálenosti
 - Vazba látky na bílkovinu – polární a nepolární oblasti
 - Kyslík – hemoglobin, myoglobin
 - Mastné kyseliny, lipidy apod.
- Polární látky v nepolárním prostředí – membrány
 - Speciální přenašečové systémy – speciální kapitola

Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
- Serový albumin
- Transport MK
 - 7 na molekulu
 - Acyl obalen polárními úseky
 - Přenos dalších látek – léčiva

Serový albumin

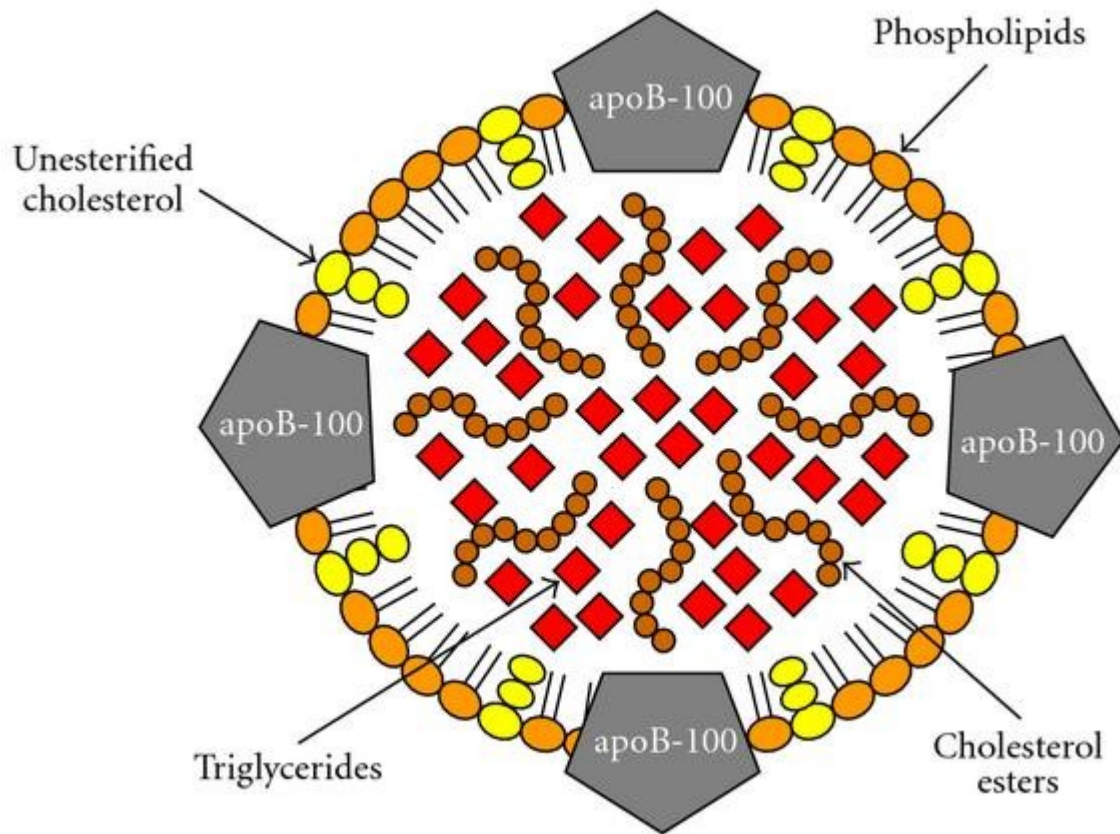


Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
- Lipoproteiny
 - Komplexní útvary, agregáty mnoha molekul
 - Různá struktura, složení, velikost apod.
- Transport lipidů
 - Cholesterol
 - Tuky aj. lipidy
 - Karotenoidy apod.
 - Nepolární komponenty obaleny fosfolipidy a apoproteiny – orientce

Lipoproteiny

- Schema lipoproteinů



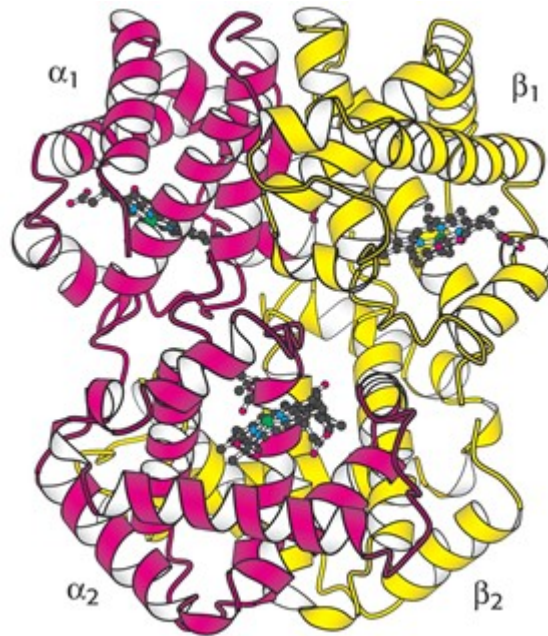
Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
 - Přenos kyslíku v krvi – nepolární – málo rozpustný
- Hemoglobin
- Jiné přenašeče
 - Myoglobin – v cytoplasmě
 - Monomerní
 - Bezobratlí aj.

Struktura hemoglobinu (Hb)

- Funkční hemoglobin je tetramer složený ze
 - - 2 podjednotek α (lehké řetězce, 141 aminokyselin) α
 - - 2 podjednotek β (těžké řetězce, 146 aminokyselin)
 - - symbolicky označujeme tento tetramer jako $\alpha_2 \beta_2$
- Označuje se HbA (adult)
 - ev. HbA1 chceme-li odlišit od minoritního (2,5%) HbA2 o složení $\alpha_2 \delta_2$ rovněž se v organismu vyskytujícího
- V každé podjednotce je vázán jeden hem jako prostetická skupina
 - koordinační vazbou Fe^{2+} na zbytky His
 - přímo na proximální His 93
 - zprostředkovaně na distální His 64

Struktura hemoglobinu (Hb)



- Model Hb
 - v řetězcích se dále rozlišují oblasti (ramena) A – H

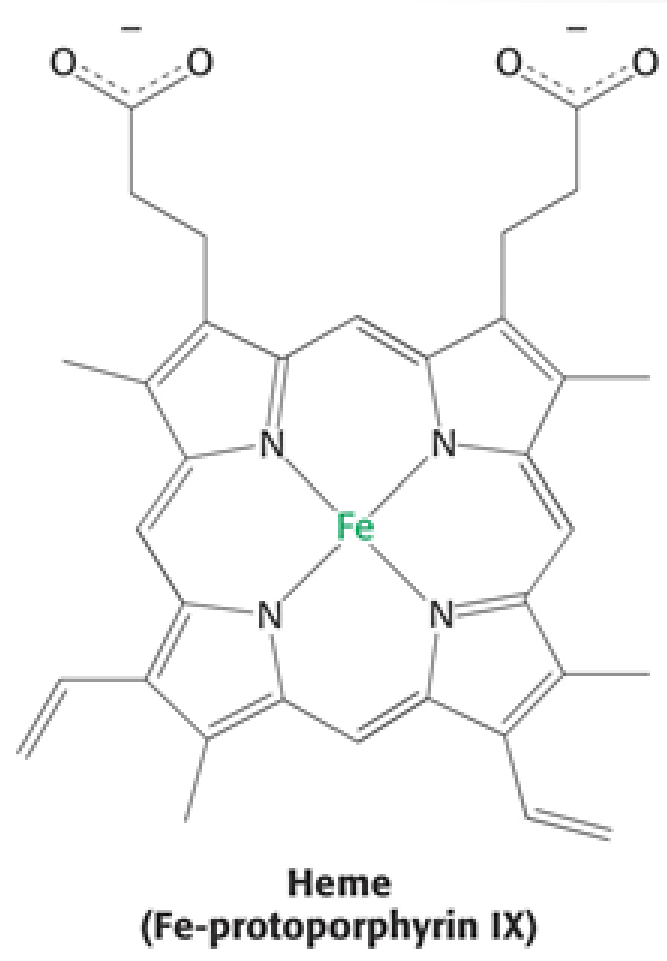
Struktura hemoglobinu (Hb)

Prostetická skupina Hb

Hem má Fe^{2+}

Oxidací na Fe^{2+} vzniká hemin

a hemoglobin se mění na methemoglobin



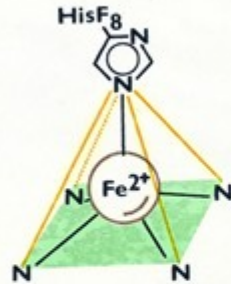
Funkce hemoglobinu

- Fe^{2+} je vázán 4 vazbami na porfyrinový kruh
- 5. koordinační místo je obsazeno proximálním His 93
- Fysiologickým ligandem 6. koordinační místa je O_2
 - vázat se mohou i jiné ligandy
 - velmi pevně se váže CO (otrava svítiplynem, spaliny nedokonalého hoření apod.)
- Vazba je vratná a lze ji popsat rovnicemi
$$\mathbf{Hb + O_2 = Hb.O_2 \quad \text{ev.} \quad Hb + CO = Hb.CO}$$
- Hb nazýváme dexoyHb, Hb.O_2 – oxyHb,
 Hb.CO – karbonylHb
 - Spektrální rozlišení – stanovení

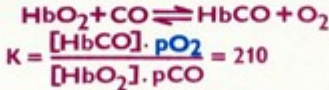
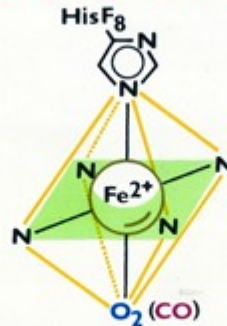
Funkce hemoglobinu

Deriváty hemoglobinu

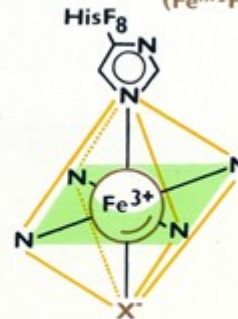
DEOXYHEMOGLOBÍN deoxy-Hb



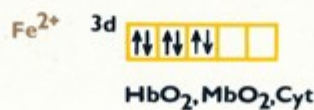
OXYHEMOGLOBÍN HbO₂ KARBOXYHEMOGLOBÍN HbCO



METHEMOGLOBÍN MetHb (Fe^{III}-Hb)



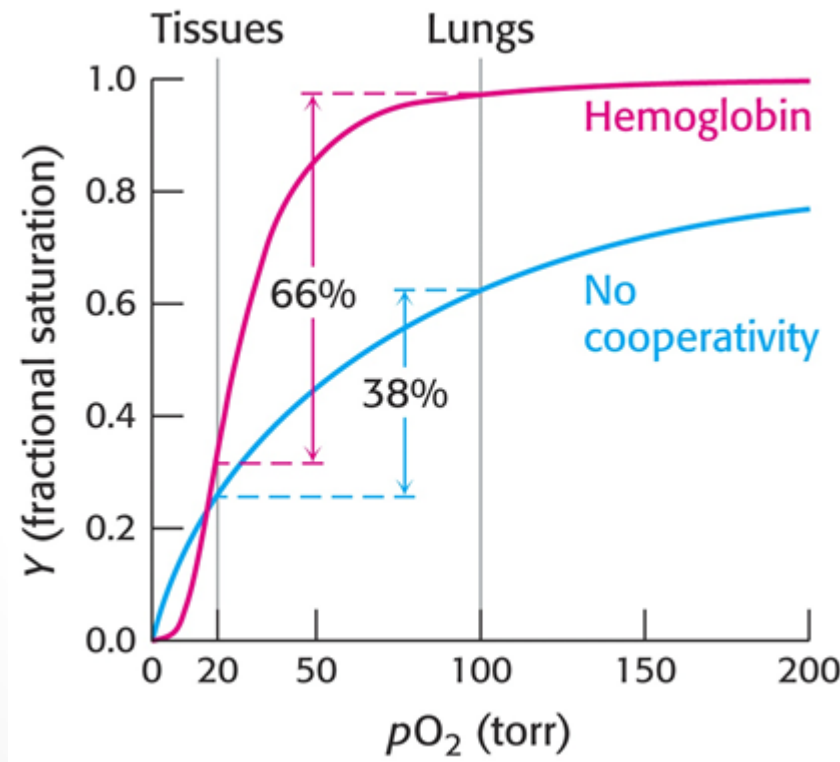
ELEKTRONOVÁ ŠTRUKTÚRA Fe:



- **Formy a struktury Hb s různými ligandy.** Povšimněte si vlivu obsazení 6. koordinačního místa ligandem, kdy se Fe²⁺ přemísťuje do roviny porfyriového kruhu. Vedle změn elektronové struktury vidíme rovnici reakce mezi Hb, O₂ a CO, hodnota K nás přesvědčí, že CO je mnohem pevněji vázán než kyslík. Přesto lze otravě zabránit eliminací CO a zvýšeným přívodem kyslíku.

Funkce hemoglobinu

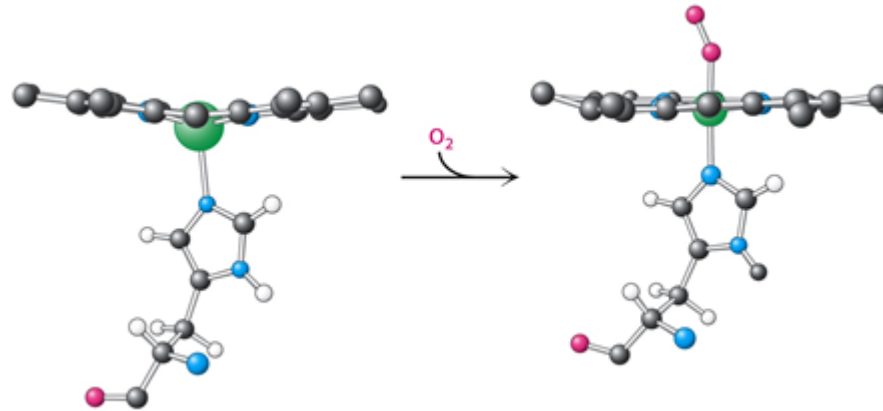
- Fysiologickou funkcí Hb je přenos kyslíku v krvi (z plic ev. žaber do tkání)
- Stupeň nasycení Hb kyslíkem (tj. $\text{HbO}_2 / (\text{HbO}_2 + \text{Hb})$) závisí na jeho parciálním tlaku $p\text{O}_2$ v okolním prostředí – červená křivka (torr = 133 Pa)



Alosterické chování Hb

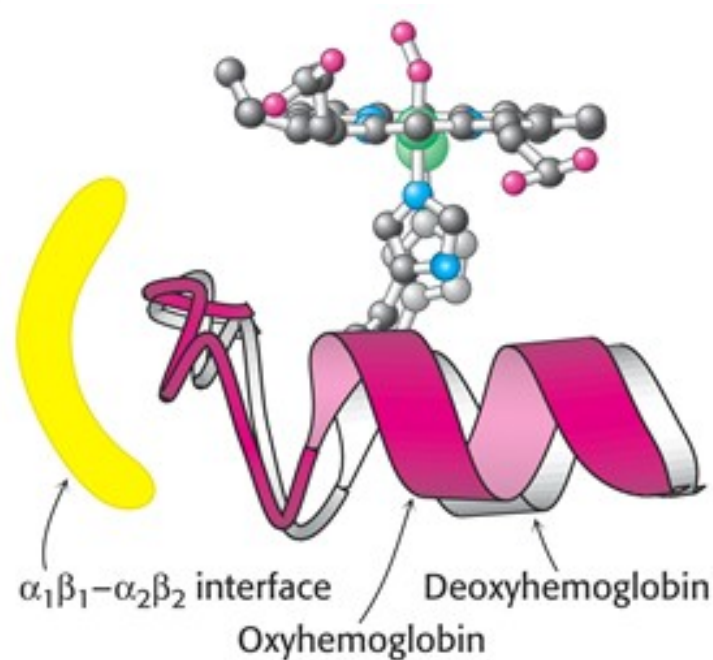
- Hb se sytí kyslíkem v plicích, uvolňuje ho v tkáních
 - Proces je zefektivněn kooperativitou vazných míst pro kyslík (4 hemy v celém tetrameru).
 - Navázáním první molekuly kyslíku na jeden hem dochází ke konformační změně způsobující zvýšení afinity zbylých vazných míst pro kyslík – viz červená křivka.
 - Pokud k tomuto efektu nedochází (například u myoglobinu, který je monomerní), je přenos kyslíku méně efektivní – viz modrá křivka.

Alosterické chování Hb



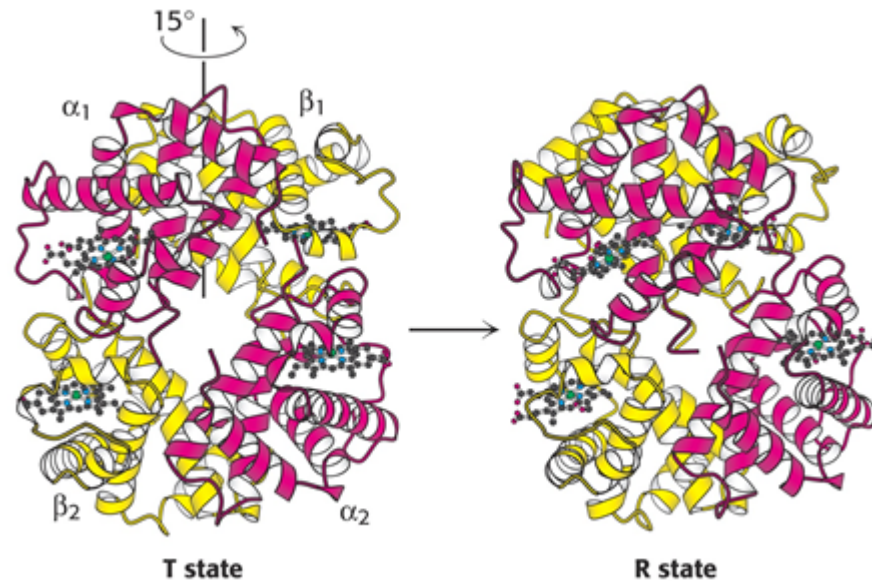
- Základem tohoto efektu změna konformace vyvolaná vazbou kyslíku na Fe²⁺ jedné z podjednotek

Alosterické chování Hb



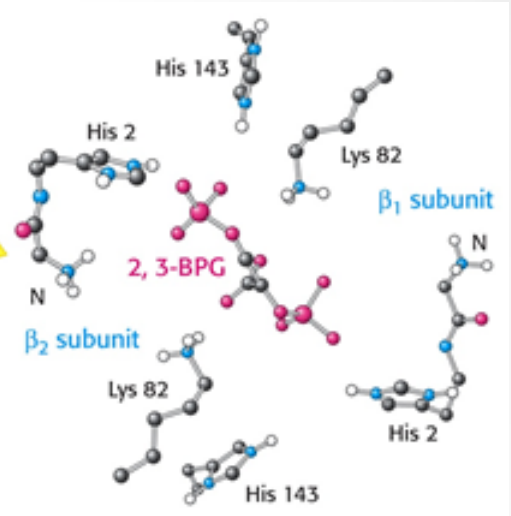
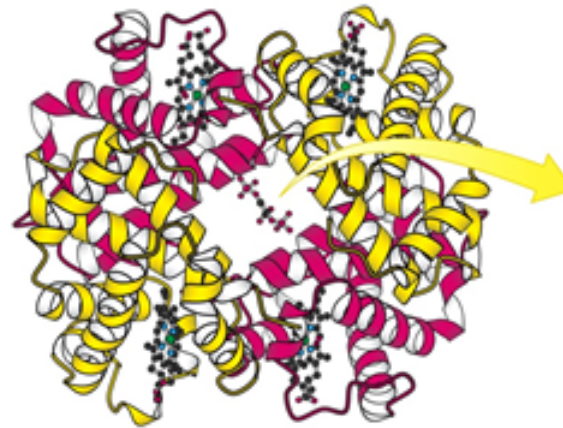
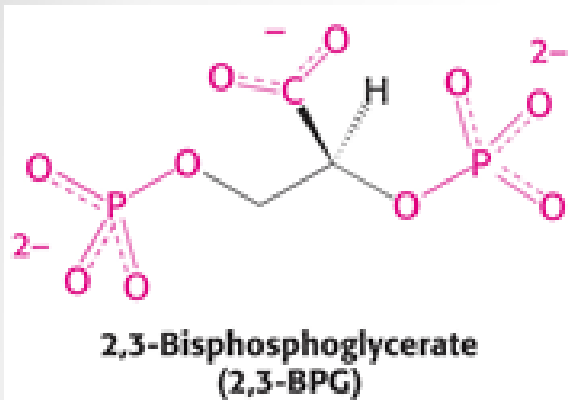
- *Schematické znázornění konformační změny vlivem vazby kyslíku na hem.*
 - Fe²⁺ za sebou táhne His 93 a s ním celé raménko (úsek) F příslušného řetězce, které pak jako páka způsobí konformační změnu celé molekuly hemoglobinu.

Alosterické chování Hb



- *Modely konformačních stavů T a R*
 - Změna se přenesla na ostatní podjednotky. Molekula Hb přechází z těsnější konformace T (tense) s nízkou afinitou ke kyslíku do uvolněné konformace R (relaxed) s vyšší afinitou. Toto chování je jedním z typů allostérie.

Allosterické chování Hb

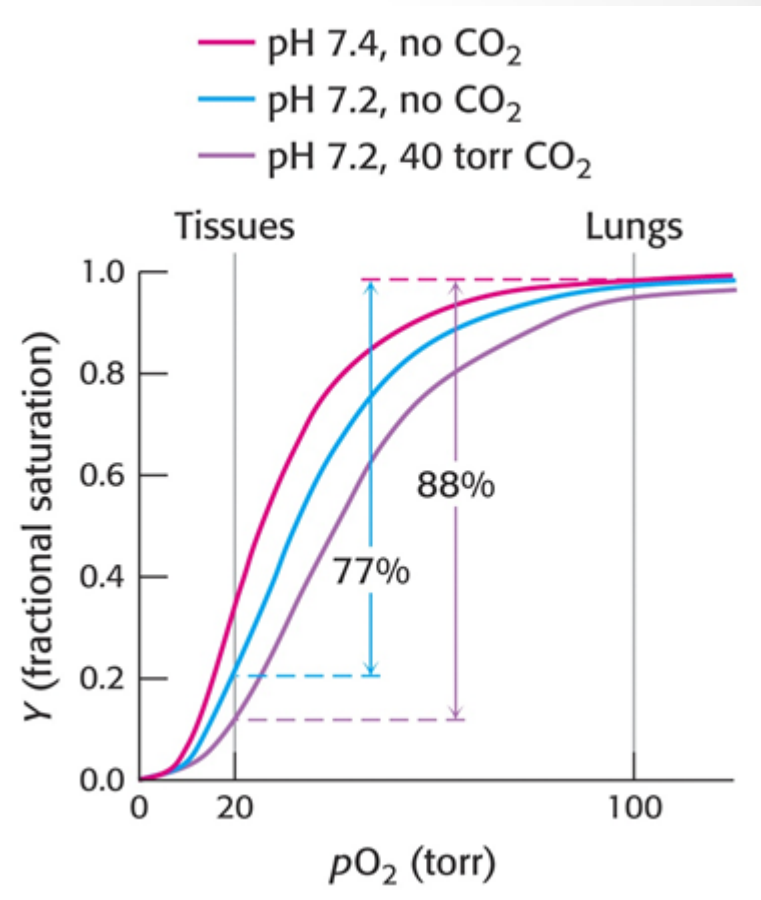


- **Zvýšení efektivity přenosu kyslíku**

- Vliv některých metabolitů, které působí na allosterické chování Hb
- Allosterické efekty
- Mimo CO₂ a H⁺ takto působí i meziprodukt glykolýzy 2,3-bisfosfoglycerát
 - Tento metabolit stabilisuje deoxy-Hb interakcí svých kyselých skupin s His 143 β -řetězců - Tak si lze představit snazší uvolňování kyslíku při intensivnější glykolýze

Vliv pH na vazbu kyslíku na Hb

- **Vliv pH a CO₂**
- **na saturaci Hb.**
 - Kromě pH je patrný také specifičtější vliv CO₂
 - Množství využitelného kyslíku se zvýší o dalších ca 11%
 - Hb je slabší kyselinou než HbO₂
 - Bohrův efekt
 - Preference pracujícího svalu - laktát

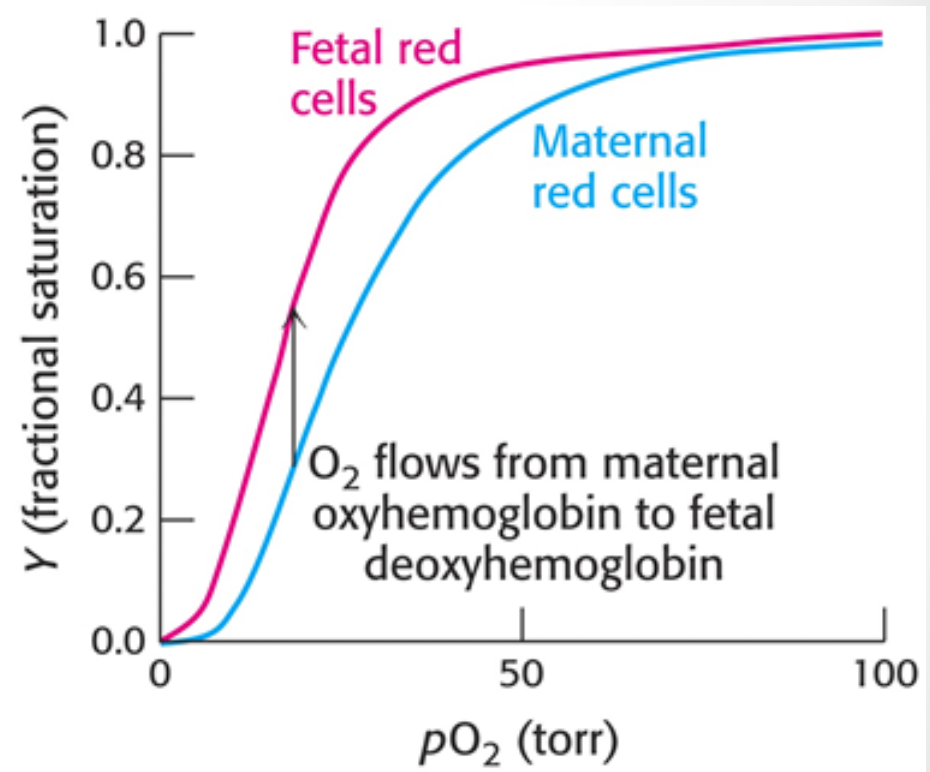


Fetální Hb

- **Srovnání saturace**

HbF a HbA

- Vyšší afinita HbF pro kyslík umožňuje jeho přečerpávání z placentární krve do krve plodu
- Syntéza fetálního Hb – HbF – $\alpha_2\gamma_2$
- Regulace syntézy podjednotek
 - Po porodu kyslík – syntéza β
 - Rozklad HbF



Patologické hemoglobiny

- Mutace v jednotlivých řetězcích Hb
- Příklad HbS

HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):

Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

HBB Sequence in Mutant Adult Hemoglobin (Hb S):

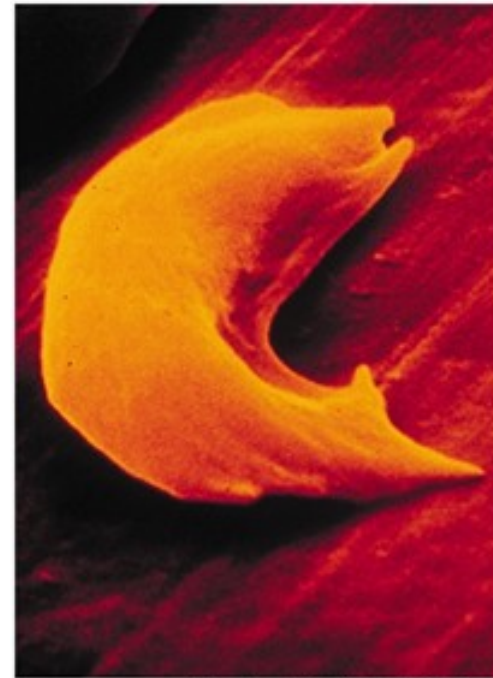
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

Srpkovitá anemie

- Morfologický projev této mutace
 - Změněný tvar erytrocytů, které nabývají srpkovitého tvaru (sickle cells – odtud HbS)



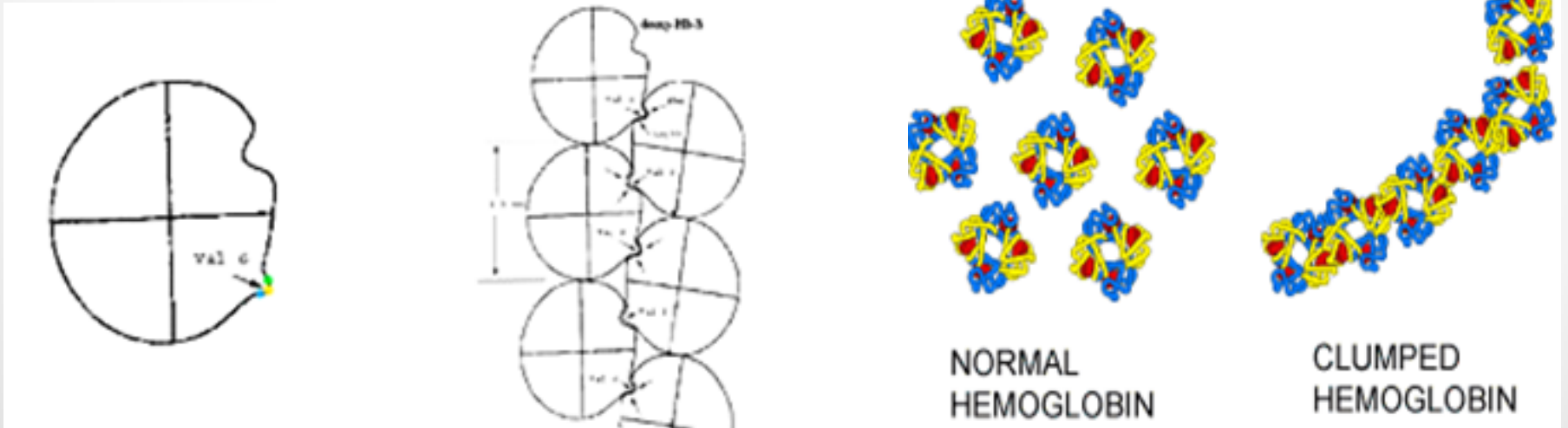
© Stanley Flegler/Visuals Unlimited



© Stanley Flegler/Visuals Unlimited

Srpkovitá anemie

- Základem morfologických změn je nová vlastnost HbS.
 - Záměna Glu-6-Val vytváří nepolární oblast
 - Místo tetrameru řetězkové aglomeráty připomínající strukturu aktinu – významné součásti cytoskeletu



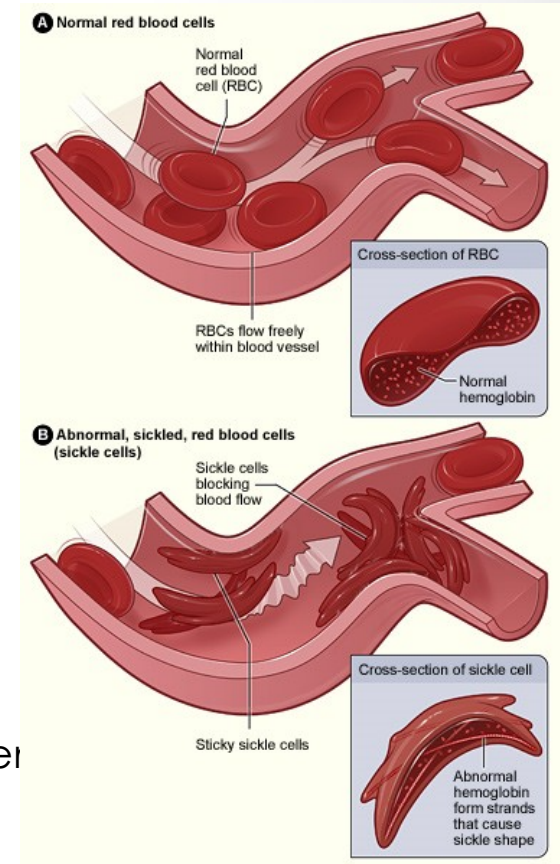
Srpkovitá anémie

Fysiologický projev – ca 10 odvozených poruch

- Nedokonalý transportu kyslíku v krvi – odtud **srpkovitá anémie**
- Nevhodný tvar, životnost ca 20 dní (ca 120 u normálních)
- Ucpávání cév

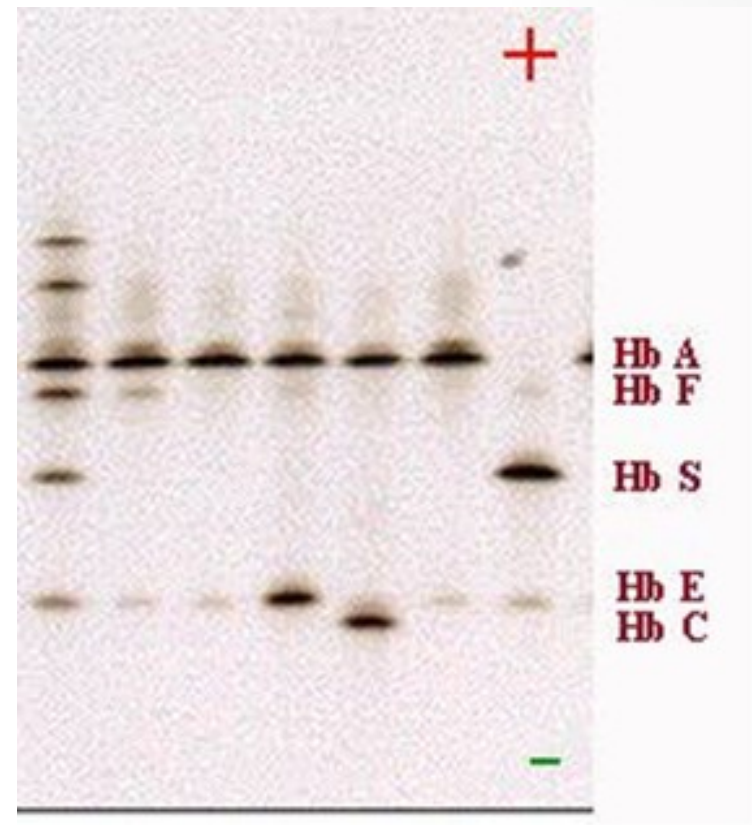
SYMPTOMS

- Fever.
- Swelling of the hands and feet.
- Enlargement of the belly (heart, liver, and spleen).
- Frequent lung infections.
- Fatigue.
- Irritability.
- Yellowing of the skin (jaundice).
- Severe bone and joint pain.
- Delayed puberty.
- Shortness of breath.
- Pain in the belly, especially in the upper right side of the abdomen
- Nausea.
- Prolonged, sometimes painful erections (priapism).
- Rapid or labored breathing.
- Frequent infections.



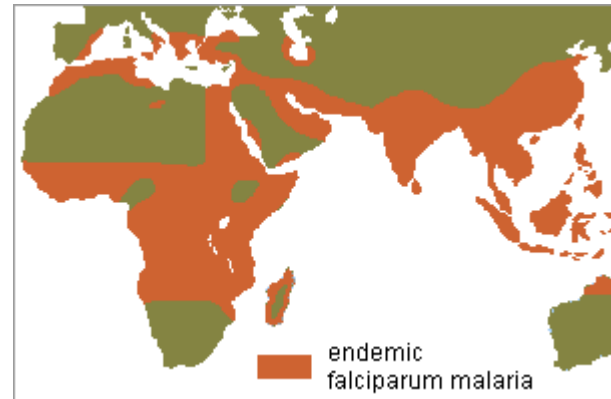
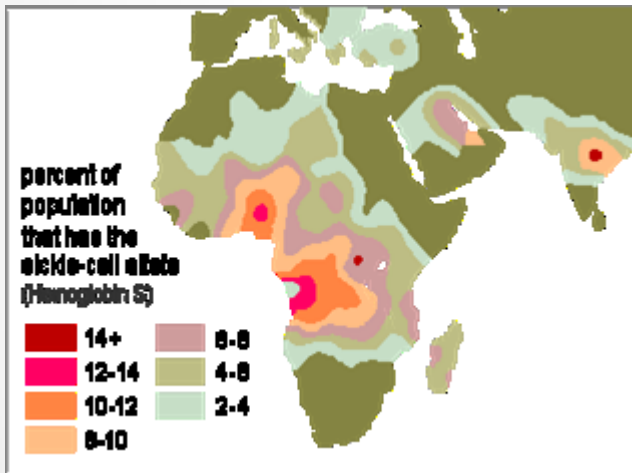
Srpkovitá anemie

- Rozlišení forem Hb elektroforezou
 - Anionty – směr k +
 - HbS je bazičtější – pomalejší



Srpkovitá anemie

- Význam mutace
 - Nevýhoda – anemie, malá výkonnost
 - Výhoda – odolnost proti *P. falciparum*



- Korelace výskytu genu HbS a malarie